

**PATENT ABSTRACTS OF JAPAN**

(11)Publication number : 2002-286716

(43)Date of publication of application : 03.10.2002

(51)Int.Cl.

G01N 33/543

G01N 33/53

(21)Application number : 2001-092378

(71)Applicant : IATRON LAB INC

(22)Date of filing : 28.03.2001

(72)Inventor : ONO TETSUYA  
KAWAMURA MASAhide  
MATSUURA SHIRO**(54) IMMUNOCHROMATOGRAPHIC METHOD CAPABLE OF SIMULTANEOUS ANALYSIS OF A PLURALITY OF ITEMS AND STRIP FOR IMMUNOCHROMATOGRAPHY**

(57)Abstract:

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To provide an immunochromatographic method and a strip for immunochromatography capable of making quantitative analysis quickly and simply.**SOLUTION:** The immunochromatographic method is to analyze each of the signals of labels originating from immuno-complex bodies each containing (1) a specific immuno-reacting substance capable of being coupled peculiarly with only one of the substances to be analyzed and fixed on a support individually, (2) the applicable substance to be analyzed, and (3) a common immuno-reacting substance capable of being coupled with all substances to be analyzed and labeled with a labeling substance, and the labeled common immuno-reacting substance to be used becomes substantial from individual labeled common immuno-reacting substance containing only one unit of common immuno-reacting substance. A strip according to the invention includes a specimen-added region, a region holding the labeled common immuno-reacting substance, and a region where the specific immuno-reacting substance is fixed.**LEGAL STATUS**

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2002-286716

(P2002-286716A)

(43) 公開日 平成14年10月3日 (2002. 10. 3)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テーマコード(参考)
G 0 1 N 33/543	5 2 1	G 0 1 N 33/543	5 2 1
33/53		33/53	Q
			M

審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 11 頁)

(21) 出願番号 特願2001-92378(P2001-92378)

(22) 出願日 平成13年3月28日 (2001. 3. 28)

(71) 出願人 000138277

株式会社ヤトロン

東京都千代田区東神田1丁目11番4号

(72) 発明者 小野 哲也

東京都千代田区東神田1丁目11番4号 株式会社ヤトロン内

(72) 発明者 川村 雅英

東京都千代田区東神田1丁目11番4号 株式会社ヤトロン内

(74) 代理人 100090251

弁理士 森田 意一

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 複数項目同時分析可能なイムノクロマトグラフ法及びイムノクロマトグラフ用ストリップ

(57) 【要約】

【課題】 定量的に、簡便且つ短時間に分析可能なイムノクロマトグラフ法及びイムノクロマトグラフ用ストリップを提供する。

【解決手段】 前記イムノクロマトグラフ法は、(1) 各分析対象物質のいずれか1つとのみ、それぞれ特異的に結合することができ、支持体上にそれぞれ別々に固定化された各特定免疫反応性物質と；(2) 各分析対象物質と；(3) 分析対象物質の全てと結合することができ、標識物質で標識化された共通免疫反応性物質とを含む各免疫複合体に由来する標識の信号をそれぞれ分析し、使用する標識化共通免疫反応性物質が、それぞれ、共通免疫反応性物質の1単位のみを含む個々の標識化共通免疫反応性物質から実質的になる。前記ストリップは、被検試料添加領域、標識化共通免疫反応性物質保持領域、及び特定免疫反応性物質固定化領域を含む。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 複数の分析対象物質を含む可能性のある被検試料について、

(1) 前記の各分析対象物質のいずれか1つとのみ、それぞれ特異的に結合することができ、しかも、支持体上にそれぞれ別々に固定化された各特定免疫反応性物質と；

(2) 前記の各分析対象物質と；

(3) 前記の複数の分析対象物質の全てと結合することができ、しかも、標識物質で標識化された共通免疫反応性物質とを含む各免疫複合体に由来する標識の信号をそれぞれ分析することにより、前記被検試料中の各分析対象物質を分析するイムノクロマトグラフ法において、使用する標識化共通免疫反応性物質が、それぞれ、共通免疫反応性物質の1単位のみを含む個々の標識化共通免疫反応性物質から実質的になることを特徴とする、イムノクロマトグラフ法。

【請求項2】 前記標識物質が、放射性同位体、蛍光物質、若しくは酵素、又は直径5nm以下である色素体である、請求項1に記載の方法。

【請求項3】 前記の複数の分析対象物質が、複数のアレルギー特異的IgE抗体である、請求項1又は2に記載の方法。

【請求項4】 液体が展開可能な支持体上に、

(1) 被検試料添加領域；

(2) 複数の分析対象物質の全てと結合することができ、しかも、標識物質で標識化された共通免疫反応性物質を保持している標識化共通免疫反応性物質保持領域；及び

(3) 前記の各分析対象物質のいずれか1つとのみ、それぞれ特異的に結合することのできる各特定免疫反応性物質が、互いに隔離した状態で固定化されている特定免疫反応性物質固定化領域が、前記被検試料添加領域を上流として、この順に配置されており、使用する標識化共通免疫反応性物質が、それぞれ、共通免疫反応性物質の1単位のみを含む個々の標識化共通免疫反応性物質から実質的になることを特徴とする、イムノクロマトグラフ用ストリップ。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、複数項目同時分析可能なイムノクロマトグラフ法及びイムノクロマトグラフ用ストリップに関する。

【0002】

【従来の技術】免疫吸着反応を用いた臨床検査において、同一の被検試料中に含まれる複数種類の成分を分析する場合、被検試料を分割してそれぞれにおいて単項目ずつ分析することが一般的である。しかし、被検試料が少ない場合や、緊急検査が必要とされる場合には、簡便法として、同一被検試料から分割又は小分け作業をする

ことなく、かつ簡易に複数種類の成分を同時に測定する手段が医療現場から切望されている。

【0003】そこで近年、簡易測定法として普及されてきたイムノクロマトグラフ法を用いて、複数項目を同時に測定する手段が開発されており、例えば、乳児下痢中の複数種類のウイルス等抗原を同時に測定する方法が開示されている(特開2000-292427号公報)。この方法では、複数種類の分析物質(例えば、ロタウイルス抗原、カルシウイルス抗原、コロナウイルス抗原、アデノウイルス抗原、及びエンテロウイルス抗原など)に対して、個々に結合する複数種類の標識化免疫反応性物質(例えば、標識化抗ロタウイルス抗原抗体、カルシウイルス抗原抗体、コロナウイルス抗原抗体、アデノウイルス抗原抗体、及びエンテロウイルス抗原抗体など)を同一イムノクロマトグラフ試薬内で同時に用いることで、イムノクロマトグラフ法による複数成分同時定量を可能としている。しかし、このイムノクロマトグラフ法では、複数種類の分析物質(例えば、ダニ、スギ、カビ、又は卵白などの複数種類の各アレルギー特異的IgE抗体)に対して共通の標識化免疫反応性物質(例えば、標識化抗IgE抗体)を用いる場合には、定量性良く分析することはできなかった。

【0004】以下、アレルギー特異的IgE抗体分析を例にとって詳しく説明する。近年、アトピー性皮膚炎又は花粉症等に代表されるアレルギー疾患は、先進国を中心に増加しており、なんらかのアレルギー素因を有する人の割合は、日本国民の3割を超えとも言われている。一般的なアレルギー反応であるI型アレルギーは、アナフィラキシーショックや気管支炎喘息のように時として死に至る重篤なものから、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、又は花粉症等、慢性疾患として日常生活を脅かすもの、そして、一過性の蕁麻疹や湿疹、軽症の鼻炎等まで多岐にわたる。これらの疾患に代表されるI型アレルギー発症には、アレルギーと総称されるタンパク質成分が不可欠である。

【0005】アレルギーは、一般の生活空間に数多く存在していることが知られており、主なものとしては、ヤケヒョウヒダニやコナヒョウヒダニなどのダニ類、カンジダ、アルテルナリア、アスペルギルス、又はクラドスポリウムなどのカビ真菌類、スギ、ヒノキ、シラカバ、カモガヤ、ハルガヤ、ブタクサ、又はヨモギ等の草木の花粉、イヌ、ネコ、又はハムスター等の動物の上皮(フケ)、そして、卵、牛乳、大豆、小麦、米、等の食品が挙げられる。また、アナフィラキシーショックを惹起し、しばしば死亡事故につながる危険なアレルギーとして、蜂毒や、ピーナッツ又は蕎麦等の食品も有名である。

【0006】このように日常生活のあらゆるところにアレルギーが存在しているが、病原性のウイルスや細菌、あるいは、毒性の高い化学物質と違い、それらが万人に

として危険であるわけではなく、前記アレルゲンを社会全体として日常生活空間から排除することは实际的に困難である。従って、アレルギー疾患患者は、本人にとってアレルギー原因物質となるアレルゲンが何であるかを知り、日常生活において極力そのアレルギー物質を回避することがアレルギー疾患の基本的かつ根本的な治療とされる。

【0007】このように、アレルギー疾患において病因となっているアレルゲン物質を調べることは非常に重要である。アレルゲン探索方法としては、皮膚テストと呼ばれるアレルゲン負荷テストが古くから行われてきた。皮膚に傷を付け、数種類のアレルゲン水溶液を塗布し、皮膚が赤く腫れ上がれば、そのアレルゲンに対するアレルギーがあると判定する方法である。しかし、この方法は患者負担が大きく、また、その検査自体が重篤なアレルギー症状を惹起する可能性もある。

【0008】そこで、最近ではこれに代わる検査として血清中のアレルゲン特異的IgE抗体測定が広く普及している。アレルゲン特異的IgE抗体は前記アレルゲンと結合し、前記I型アレルギー反応を引き起こすのに必須な体内成分である。従って、個々のアレルゲンに特異的な血液中のIgE抗体の存在量を測定することにより、皮膚テストと同様、患者がどのアレルゲンに対してどの程度のアレルギー反応を呈するのかを予測することができる。現在、国内だけでも数社から、アレルゲン特異的IgE抗体測定試薬（例えば、ファルマシア社CAP、ヤトロン社アラスタット、日立化成MAST、又はシオノギ社ルミワード等）が市販されている。一般に複数のアレルゲン特異的IgE抗体を測定する場合には、被検試料は各アレルゲン項目毎に分割する必要があるが、日立化成MASTは、被検試料を分割せずに複数アレルゲン項目を同時に測定することができるユニークな製品である。日立化成MASTは、イムノクロマトグラフ法を利用したものではなく、ELISA（酵素免疫検定法）の変法であり、より具体的には、複数の糸（各糸には、それぞれ異なるアレルゲンが固定化されている）を同一容器内に担持した反応容器中で、アレルゲン特異的IgE抗体を含有する被検試料を反応させた（1次反応）後、洗浄し、続いて、IgEに特異的に反応する標識抗体を反応させ（2次反応）、最後に、前記標識に由来する信号を分析するものである。このように、日立化成MASTは、イムノクロマトグラフ法とは全く原理を異にするものであり、しかも、一昼夜の測定時間を必要とする欠点があった。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】従って、本発明の課題は、複数の分析対象物質（例えば、複数種類のアレルゲン特異的IgE）を、前記分析対象物質全てに共通して反応する標識化免疫反応性物質（例えば、標識化抗IgE抗体）を用いて分析するイムノクロマトグラフ法であ

って、定量的に、しかも、被検試料を分割することなく、簡便且つ短時間に分析可能な前記イムノクロマトグラフ法を提供することにある。

【0010】

【課題を解決するための手段】前記課題は、本発明による、複数の分析対象物質を含む可能性のある被検試料について、

（1）前記の各分析対象物質のいずれか1つとのみ、それぞれ特異的に結合することができ、しかも、支持体上にそれぞれ別々に固定化された各特定免疫反応性物質と；

（2）前記の各分析対象物質と；

（3）前記の複数の分析対象物質の全てと結合することができ、しかも、標識物質で標識化された共通免疫反応性物質とを含む各免疫複合体に由来する標識の信号をそれぞれ分析することにより、前記被検試料中の各分析対象物質を分析するイムノクロマトグラフ法において、使用する標識化共通免疫反応性物質が、それぞれ、共通免疫反応性物質の1単位のみを含む個々の標識化共通免疫反応性物質から実質的になることを特徴とする、イムノクロマトグラフ法によって解決することができる。

【0011】また、本発明は、液体が展開可能な支持体上に、

（1）被検試料添加領域；

（2）複数の分析対象物質の全てと結合することができ、しかも、標識物質で標識化された共通免疫反応性物質を保持している標識化共通免疫反応性物質保持領域；及び

（3）前記の各分析対象物質のいずれか1つとのみ、それぞれ特異的に結合することのできる各特定免疫反応性物質が、互いに隔離した状態で固定化されている特定免疫反応性物質固定化領域が、前記被検試料添加領域を上流として、この順に配置されており、使用する標識化共通免疫反応性物質が、それぞれ、共通免疫反応性物質の1単位のみを含む個々の標識化共通免疫反応性物質から実質的になることを特徴とする、イムノクロマトグラフ用ストリップに関する。

【0012】本明細書において、「イムノクロマトグラフ法」とは、特に限定されるものではないが、例えば、その工程中にクロマトグラフ法（特に、薄層クロマトグラフ法又はペーパークロマトグラフ法）を用いる工程を含み、1又は複数の抗原抗体反応の少なくとも一部をクロマトグラフ用の薄膜状支持体上で展開しながら実施する免疫学的分析法を挙げることができる。本明細書における「分析」には、分析対象物の量を定量的又は半定量的に決定する「測定」と、分析対象物の存在の有無を判定する「検出」との両方が含まれる。

【0013】

【発明の実施の形態】以下、本発明を詳細に説明する。本発明では、共通免疫反応性物質、すなわち、複数の分

析対象物質の全てと免疫学的に結合することのできる免疫反応性物質が、それぞれ、共通免疫反応性物質の1単位のみを含む個々の標識化共通免疫反応性物質から実質的になる。

【0014】本発明方法を適用して分析することのできる前記分析対象物質は、共通免疫反応性物質が存在する物質である限り、特に限定されるものではないが、例えば、抗体又は抗原などを挙げることができる。前記抗体としては、例えば、IgE又は自己抗体などを挙げることができ、前記抗原としては、例えば、糖タンパク質、あるいは、サブユニットから構成されるタンパク質などを挙げることができる。

【0015】分析対象物質が抗体、例えば、分析対象物質が複数のアレルゲン特異的IgEである場合には、共通免疫反応性物質として、抗IgE抗体を用いることができる。また、分析対象物質が、複数の自己抗体（但し、 $\gamma$ グロブリンクラスがIgGであるもの）、例えば、抗DNA抗体、抗ENA（extractable nuclear antigen；可溶性核抗原）抗体、抗カルジオリピン抗体、抗ミトコンドリア抗体、又は抗平滑筋抗体である場合には、共通免疫反応性物質として、抗IgG抗体を用いることができる。更に、分析対象物質が、異なる $\gamma$ グロブリンクラスからなる複数の抗DNA抗体（例えば、IgG、IgM、IgE、IgD、又はIgAなど）である場合には、共通免疫反応性物質として、前記の各抗DNA抗体が共通に認識する特定のDNAを用いることができる。

【0016】一方、分析対象物が抗原、例えば、分析対象物質が、異なる糖鎖部分と共通タンパク質部分とを含む複数の糖タンパク質である場合には、共通免疫反応性物質として、前記の共通タンパク質部分を認識する抗体を用いることができる。また、分析対象物質が、異なるサブユニット部分と共通サブユニット部分とを含む複数のタンパク質である場合には、共通免疫反応性物質として、前記の共通サブユニット部分を認識する抗体を用いることができる。なお、本発明においては、共通免疫反応性物質として、抗体それ自体を用いることもできるし、あるいは、その断片（フラグメント）、例えば、F(ab')<sub>2</sub>、Fab、Fab'、又はFvを用いることもできる。

【0017】本発明において使用する標識化共通免疫反応性物質の群に含まれる個々の標識化共通免疫反応性物質は、共通免疫反応性物質の1単位のみを含むと共に、標識物質を1単位以上結合して含む。そして、本発明において使用する標識化共通免疫反応性物質の群は、こうした共通免疫反応性物質の1単位のみを含む標識化共通免疫反応性物質から実質的に構成される。すなわち、共通免疫反応性物質を2単位以上含む標識化共通免疫反応性物質が、本発明方法の定量性に影響を与える量で含まれない。

【0018】ここで、共通免疫反応性物質の1単位とは、1つの抗原抗体免疫反応を実施する抗原又は抗体の単位を意味する。例えば、抗体の場合には、抗原結合部位を実質的に1つのみ有する分子を意味し、抗原の場合には、エпитープを実質的に1つのみ有する分子を意味する。具体的には、Fab、Fab'、又はFvにおいては、各抗体断片1分子が共通免疫反応性物質1単位に相当する。また、抗体それ自体（例えば、IgG分子全体）又はF(ab')<sub>2</sub>においては、1分子中に2個の抗原結合部位を有するが、分析対象物質の分子量が十分に大きい場合には、立体構造的な障害により、抗原結合部位が実質的に1つであると考えられるため、抗体1分子又はF(ab')<sub>2</sub>1分子が共通免疫反応性物質1単位に相当する。また、標識物質の1単位とは、標識物質としての機能を発現する最小単位である。

【0019】本発明で用いる標識物質は、個々の標識化共通免疫反応性物質が、共通免疫反応性物質の1単位のみを含むと共に、標識物質を1単位以上結合して含むことができるように、前記標識物質で前記共通免疫反応性物質を標識することが可能である標識物質である限り、特に限定されるものではないが、例えば、放射性同位体、蛍光物質、若しくは酵素、又は直径5nm以下（好ましくは3nm以下）である色素体を挙げることができる。

【0020】前記放射性同位体としては、例えば、<sup>125</sup>Iを挙げることができる。放射性同位体を用いる公知の標識化方法では、通常、共通免疫反応性物質を重合させることがないため、公知標識化方法により、共通免疫反応性物質の1単位のみを含むと共に放射性同位体を1単位以上結合して含む標識化共通免疫反応性物質を調製することができる。

【0021】前記蛍光物質としては、例えば、ユーロピウム、フルオロセインイソシアネート、ジクロロトリアジニルフルオロセイン、又はテトラメチルローダミンイソシアネートを挙げることができる。蛍光物質を用いる公知の標識化方法では、通常、共通免疫反応性物質を重合させることがないため、公知標識化方法により、共通免疫反応性物質の1単位のみを含むと共に蛍光物質を1単位以上結合して含む標識化共通免疫反応性物質を調製することができる。

【0022】前記酵素としては、例えば、アルカリフォスファターゼ、パーオキシダーゼ、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ、又はグルコース-6-リン酸脱水素酵素などを挙げることができる。酵素としてアルカリフォスファターゼを用いる場合には、発色基質として5-ブロモ-4-クロロ-3-インドリル酸（BCIP）を使用することができ、酵素としてパーオキシダーゼを用いる場合には、発色基質としてテトラメチルベンチジン（TMB）を使用することができる。

【0023】これらの酵素を用いて、個々の標識化共通

免疫反応性物質が、共通免疫反応性物質の1単位のみを含むと共に、標識物質を1単位以上結合して含むことができるように、共通免疫反応性物質を標識する方法は、特に限定されるものではないが、例えば、マレイミド基とチオール基又はアミノ基との反応性を利用したマレイミド法などを挙げることができる。なお、抗体を酵素標識する場合には、ペプシン処理して得られるFab'のチオール基と酵素とを結合させる方法を用いることもできる。前記マレイミド法では、酵素のチオール基又はアミノ基にマレイミド基を導入し、次いで、抗体又は抗原のチオール基と反応させることにより、酵素1分子と共通免疫反応性物質（例えば、抗体）1分子とが結合した標識化共通免疫反応性物質を得ることができる。

【0024】ところで、抗体もしくは抗原を酵素標識するには、一般に架橋試薬が用いられる。その主なものとしてはカルボジイミド、イソシアネート、ジアゾ化合物、ベンゾキノン、グルタルアルデヒド、過ヨウ素酸、マレイミド化合物、ヒリジル・ジスルフィド化合物が挙げられる（酵素免疫測定法 第3版 石川栄治）。例えば、1969年に報告された一段階グルタルアルデヒドを用いた酵素標識法は、広く普及した方法であるが、この方法は非特異的な化学反応が多く、抗体もしくは抗原同士、あるいは酵素同士が重合してしまう。いわゆるホモポリマー化現象が見られ、近年は酵素標識法としては用いられることが少ない。本発明においてはそのような酵素標識手法は適さない。また、別の酵素標識法として二段階グルタルアルデヒド法が公知である。二段階グルタルアルデヒド法では、まず酵素を過剰のグルタルアルデヒド処理した後、グルタルアルデヒドを除いてから、抗体又は抗原と反応させる。しかし、ペルオキシダーゼやアルカリフォスファターゼなど比較的グルタルアルデヒド処理による重合が少ない酵素の場合でも、酵素を介して複数の抗体又は抗原が結合してしまうことも多く、本発明においては二段階グルタルアルデヒド法も適さない。

【0025】標識物質として使用することのできる、直径5nm以下である色素体における前記色素体としては、例えば、ラテックス、金、銀、鉄、銅、セレン、硫黄、テルル、又は炭素コロイドを挙げることができる。これらの色素体は、一般に、物理結合、例えば、静電結合、疎水結合、又は配位結合等により、共通免疫反応性物質と結合させることができる。

【0026】共通免疫反応性物質として代表的なマウスモノクローナルIgGのFabフラグメントの分子量は約7万5千とされ、その大きさは最大長で8nm程度とされている。直径が5nmを越える色素体を用いた場合には、色素体1分子に対して、複数のIgGのFabフラグメントが結合すると考えられる。本発明において共通免疫反応性物質としてIgGのFabフラグメントを用いる場合には、直径5nm以下である色素体を用いる

ことにより、色素体1分子に対して、多くてもIgGのFabフラグメント1分子を結合させることができる。なお、色素体が極めて小さい（例えば、直径1nm以下）場合、IgGのFabフラグメント1分子に対して複数の色素体が結合するが、共通免疫反応性物質1単位のみを含むため、定量性の保持に問題はない。また、共通免疫反応性物質として、前記IgGのFabフラグメントよりも大幅に分子量の小さい物質〔例えば、Fab'フラグメント、ウイルス抗原タンパク質、又はアレルゲンタンパク質（分子量=数万～数千）〕を用いる場合には、直径が更に小さい色素体を用いる必要がある。前記色素体の直径は、用いる共通免疫反応性物質の分子量及び／又は最大長に応じて、適宜決定することが可能である。

【0027】本発明のイムノクロマトグラフ法は、標識化免疫反応性物質として、それぞれ、共通免疫反応性物質の1単位のみを含む個々の標識化共通免疫反応性物質から実質的になる標識化共通免疫反応性物質を用いること以外は、通常のイムノクロマトグラフ法と同様にして実施することができる。

【0028】一般に、分析対象物質を含む被検試料は、支持体（例えば、薄膜状支持体）の一部分に滴下等の方法で接触させることにより、支持体に吸収され、毛細管現象にて拡散する。この時、拡散する方向は、薄膜水平方向において任意であるが、通常は、支持体切断辺近傍に被検試料を接触させ、また、その反対側の切断辺近傍に大量の液体を吸収するセルロースなどの吸収担体を密着させ、分析物質が免疫反応により支持体上に固定化されて除かれた後の被検試料溶液を吸収させる。これにより、支持体中での拡散方向はおのずと一方向に限定される。なお、種々のイムノクロマトグラフ法の中には、被検試料を支持体切断辺の近傍ではなく、中央位置で接触させる方法（特開平11-69996号公報）等もあるが、その場合も、発色基質液をやはり支持体切断辺近傍から接触吸収させ、その反対側に吸収担体を配置することで、結果的に拡散方向を吸収担体方向に収束させる仕組みになっている。以下、便宜的に、分析対象物質を含有する可能性のある被検試料を接触吸収させる場所に近い方を支持体上流と呼び、逆に吸収担体に近い側を下流として説明する。

【0029】本発明のイムノクロマトグラフ法は、特に限定されるものではないが、例えば、本発明のイムノクロマトグラフ用ストリップを用いて実施することができる。以下、本発明のイムノクロマトグラフ法用ストリップの構造について、主に図1に沿って説明する。図1に示すイムノクロマトグラフ用ストリップ10は、展開方向（図1における矢印Aで示す方向）の上流から下流に向かって、被検試料添加領域として機能する試料添加パッド1、標識化免疫反応性物質保持領域として機能する標識化共通免疫反応性物質保持パッド2、免疫反応性物

質固定化領域として機能する固定化メンブレン3、及び展開促進領域として機能する吸収パッド4がこの順に、基材層としての粘着シート5上に、例えば、接着剤によって貼付して配置されている。本発明のイムノクロマトグラフ用ストリップは、被検試料添加領域、標識化免疫反応性物質保持領域、及び免疫反応性物質固定化領域を少なくとも含む限り、特に限定されるものではないが、展開促進領域を更に含むことが好ましい。

【0030】前記固定化メンブレン3は、複数の分析対象物質（例えば、分析対象物質A、分析対象物質B、及び分析対象物質C）のいずれか1つとのみ、それぞれ特異的に結合することのできる各免疫反応性物質（以下、特定免疫反応性物質と称する）を、それぞれ別々に固定化した領域である検出ゾーン3a、3b、3cを有する。例えば、検出ゾーン3aには、分析対象物質Aと結合するが、分析対象物質B又は分析対象物質Cのいずれとも結合しない特定免疫反応性物質Aが固定化されており、同様に、検出ゾーン3bには、分析対象物質Bと結合するが、分析対象物質C又は分析対象物質Aのいずれとも結合しない特定免疫反応性物質Bが固定化されており、検出ゾーン3cには、分析対象物質Cと結合するが、分析対象物質A又は分析対象物質Bのいずれとも結合しない特定免疫反応性物質Cが固定化されている。

【0031】本発明で用いる各特定免疫反応性物質は、分析対象物質に応じて適宜決定することができ、例えば、分析対象物質が複数のアレルゲン特異的IgEである場合には、各特定免疫反応性物質として、各アレルゲンをを用いることができる。分析対象物質が、複数の自己抗体、例えば、抗DNA抗体、抗ENA抗体、抗カルジオリピン抗体、抗ミトコンドリア抗体、又は抗平滑筋抗体である場合には、各特定免疫反応性物質として、前記自己抗体が認識する各抗原を用いることができる。分析対象物質が、異なるγグロブリンクラスからなる複数の抗DNA抗体である場合には、各特定免疫反応性物質として、各γグロブリンクラスを認識することのできる各抗体（例えば、抗IgG抗体、抗IgM抗体、抗IgE抗体、抗IgD抗体、又は抗IgA抗体など）を用いることができる。また、分析対象物質が、異なる糖鎖部分と共通タンパク質部分とを含む複数の糖タンパク質である場合には、各特定免疫反応性物質として、前記の各糖鎖部分を認識する各抗体を用いることができる。分析対象物質が、異なるサブユニット部分（以下、特定サブユニット部分と称する）と共通サブユニット部分とを含む複数のタンパク質である場合には、各特定免疫反応性物質として、前記の各特定サブユニット部分を認識する各抗体を用いることができる。なお、本発明においては、特定免疫反応性物質として、抗体それ自体を用いることもできるし、あるいは、その断片、例えば、F(a b')<sub>2</sub>、Fab、Fab'、又はFvを用いることもできる。

【0032】本発明のイムノクロマトグラフ法用ストリップにおいて、免疫反応性物質固定化領域における各特定免疫反応性物質の配置パターンは、後述する分析工程において、各検出ゾーン上で形成される各免疫複合体に由来する標識の信号を分析する際に、各信号が区別可能であるように隔離されている限り、特に限定されるものではない。例えば、図1に示すように、上流から下流に向かう展開方向に対して直列に順々に配置（1レーン・多行型）することもできるし、あるいは、前記展開方向に並置して配置（多レーン・1行型）することもできるし、更には、これらを組み合わせて格子状に配置〔すなわち、格子の各交差点上に配置（多レーン・多行型）〕することもできるが、被検試料中の分析成分をなるべく効率よく膜上の固定化領域上の免疫反応性物質と免疫反応を行なわせることができるように、展開方向に対して直列に順々に配置することが好ましい。また、各検出ゾーンの形状も、特に限定されるものではなく、例えば、ドット状又は帯状であることができる。

【0033】本発明のイムノクロマトグラフ法用ストリップにおける支持体は、液体が展開可能である支持体である限り、特に限定されるものではないが、例えば、ポリアミド繊維、グラスファイバー、セルロース、ニトロセルロース、セルロースアセテート、フッ化ビニリデン樹脂、又はポリテトラフルオロエチレンなどからなる多孔質体（例えば、濾紙又は多孔性ポリマー）などを挙げることができる。また、本発明のイムノクロマトグラフ法用ストリップでは、前記支持体の裏面に基材層、例えば、ガラス板、アルミニウム板、又はプラスチック板などを設けることもできる。

【0034】本発明のイムノクロマトグラフ法は、特に限定されるものではないが、例えば、（1）複数の分析対象物質を含む可能性のある被検試料と、標識化共通免疫反応性物質とを、支持体上で展開させ、前記支持体上に固定化された各固定化特定免疫反応性物質と接触させる工程（以下、接触工程と称する）；及び（2）前記の各固定化特定免疫反応性物質と、それに結合した分析対象物質と、更にそれに結合した標識化共通免疫反応性物質との3者からなる各免疫複合体に由来する標識の信号を、それぞれ分析する工程（以下、分析工程と称する）を含むことができる。

【0035】以下、図1に示すイムノクロマトグラフ用ストリップ10を用いた場合（すなわち、分析対象物質が、分析対象物質A、分析対象物質B、及び分析対象物質Cの3種類である場合）を例にとり、前記接触工程及び分析工程について説明する。図1に示すイムノクロマトグラフ用ストリップ10の試料添加パッド1に、分析対象物質A、分析対象物質B、及び分析対象物質Cを含む被検試料を滴下すると、毛細管現象により、矢印Aで示す方向に向かって、被検試料の展開が開始される。被検試料中に含まれる3種類の各分析対象物質は、標識化

共通免疫反応性物質を保持する保持パッド2に到達したところで、標識化共通免疫反応性物質との1:1の免疫複合体を形成する。すなわち、分析対象物質A、分析対象物質B、及び分析対象物質Cは、それぞれ、標識化共通免疫反応性物質と免疫学的に結合して、3種類の免疫複合体を形成する。以下、分析対象物質Aと標識化共通免疫反応性物質との1:1の免疫複合体を2成分免疫複合体Aと称し、同様に、分析対象物質Bと標識化共通免疫反応性物質との1:1の免疫複合体を2成分免疫複合体Bと、分析対象物質Cと標識化共通免疫反応性物質との1:1の免疫複合体を2成分免疫複合体Cと称する。

【0036】更に展開が進行すると、各2成分免疫複合体（すなわち、2成分免疫複合体A、2成分免疫複合体B、及び2成分免疫複合体C）は、固定化メンブレン3の検出ゾーン3aに到達する。検出ゾーン3aには、分析対象物質Aとは結合するが、分析対象物質B又は分析対象物質Cのいずれとも結合しない特定免疫反応性物質Aが固定化されているため、前記の各2成分免疫複合体の内、2成分免疫複合体Aのみが、固定化特定免疫反応性物質Aと結合し、3成分免疫複合体（以下、3成分免疫複合体Aと称する）を検出ゾーン3a上で形成する。一方、2成分免疫複合体B及び2成分免疫複合体Cは、検出ゾーン3aを通過し、次の検出ゾーン3bに到達する。

【0037】検出ゾーン3bには、分析対象物質Bとは結合するが、分析対象物質C又は分析対象物質Aのいずれとも結合しない特定免疫反応性物質Bが固定化されているため、前記の各2成分免疫複合体の内、2成分免疫複合体Bのみが、固定化特定免疫反応性物質Bと結合し、3成分免疫複合体（以下、3成分免疫複合体Bと称する）を検出ゾーン3b上で形成する。残る2成分免疫複合体Cは、検出ゾーン3bを通過し、次の検出ゾーン3cに到達する。検出ゾーン3cには、分析対象物質Cとは結合するが、分析対象物質A又は分析対象物質Bのいずれとも結合しない特定免疫反応性物質Cが固定化されているため、最後に残った2成分免疫複合体Cも、固定化特定免疫反応性物質Cと結合し、3成分免疫複合体（以下、3成分免疫複合体Cと称する）を検出ゾーン3c上で形成する。このように、本発明のイムノクロマトグラフ法における接触工程では、単独の共通レーン（展開帯）において、複数の分析対象物質が混在する被検試料であっても、各分析対象物質毎に設けた各検出ゾーン上で、定量性を損なうことなく、それぞれ独立に、3成分免疫複合体を形成させることができる。

【0038】以上、分析対象物質が3種類である場合について、接触工程を説明したが、分析対象物質が2種類又は4種類以上である場合についても、同様に、分析対象物質の数と同じ数の検出ゾーンを設けることにより、それらの各検出ゾーン上において、定量性を損なうことなく、それぞれ独立に、3成分免疫複合体を形成させる

ことができる。

【0039】本発明のイムノクロマトグラフ法では、図1に示すイムノクロマトグラフ用ストリップ10のように、試料添加パッド1の下流に標識化共通免疫反応性物質保持パッド2を配置することもできるし、あるいは、試料添加パッドの上流に標識化共通免疫反応性物質添加パッドを配置することもできるし、あるいは、試料添加パッド及び標識化共通免疫反応性物質保持パッドを別々に設けずに、予め、被検試料と標識化共通免疫反応性物質とを混合した混合液の状態で滴下し、展開を開始することもできる。

【0040】接触工程の終了後、分析工程において、各検出ゾーン毎に、各3成分免疫複合体中の標識に由来する信号を分析する。分析工程では、用いる標識物質の種類に応じて、それ自体公知の分析手段により、標識に由来する信号を分析することができる。例えば、標識物質として色素体を用いる場合には、目視又は色計測機器により分析することができ、標識物質として放射性同位体を用いる場合には、放射線測定機器により分析することができ、標識物質として蛍光物質を用いる場合には、目視又は蛍光分析器により分析することができる。標識物質として酵素を用いる場合には、前記接触工程の終了後、発色基質を上流から改めて展開することにより、各免疫複合体における酵素と反応させ、発色させることができる。この場合、目視又は色計測機器により前記発色を分析することができる。

【0041】

【実施例】以下、実施例によって本発明を具体的に説明するが、これらは本発明の範囲を限定するものではない。

【実施例1】《アルカリホスファターゼ標識化抗IgE抗体Fab'を用いるイムノクロマトグラフ用ストリップの作製》

(1) アレルゲン固定化膜の作製

ニトロセルロース膜（HF180；ミリポア社製）を5mm×25mmのサイズに切断した。膜の一端（上流方向）から15mm及び20mmの位置に、それぞれ、ダニアレルゲン抽出タンパク質水溶液（ヤケヒョウヒダニ抽出物；グリア社製）〔濃度1mg/mL；5mmol/Lホウ酸緩衝液（pH8.5）で希釈後、透析した水溶液〕と、卵白アレルゲン抽出タンパク質水溶液〔濃度1mg/mL；5mmol/Lホウ酸緩衝液（pH8.5）で希釈後、透析した水溶液〕とを、幅1mmの直線状に塗布した。そのまま、室温下で1時間静置し、続いて、37℃で30分間静置して、各アレルゲン抽出タンパク質を固定化した。シリカゲルデシケーター内に保存し、室温下で一夜乾燥させることにより、アレルゲン固定化膜A（上流から下流に向かって、ダニアレルゲン及び卵白アレルゲンの順に配置）を作製した。

【0042】一方、膜の一端から15mm及び20mm



の位置に、それぞれ、前記卵白アレルゲン抽出タンパク質水溶液と前記ダニアレルゲン抽出タンパク質水溶液とを、幅1mmの直線状に塗布すること以外は、アレルゲン固定化膜Aを作製するための前記操作を繰り返すことにより、アレルゲン固定化膜B（上流から下流に向かって、卵白アレルゲン及びダニアレルゲンの順に配置）を作製した。また、膜の一端から15mmの位置に、前記ダニアレルゲン抽出タンパク質水溶液を幅1mmの直線状に塗布すること以外は、アレルゲン固定化膜Aを作製するための前記操作を繰り返すことにより、アレルゲン固定化膜C（ダニアレルゲンのみ配置）を作製した。更に、膜の一端から15mmの位置に、前記卵白アレルゲン抽出タンパク質水溶液を幅1mmの直線状に塗布すること以外は、アレルゲン固定化膜Aを作製するための前記操作を繰り返すことにより、アレルゲン固定化膜D（卵白アレルゲンのみ配置）を作製した。

#### 【0043】（2）アルカリホスファターゼ標識化抗IgE抗体Fab'の調製

抗ヒトIgEマウスモノクローナル抗体をペプシン処理した後、2-メルカプトエチルアミンにより還元し、ゲル濾過により精製Fab'フラグメント1mgを調製した。一方、これとは別に、ウシ小腸アルカリホスファターゼ2mgを、2mg/mLとなるようにリン酸緩衝液で希釈した後、透析し、7.5mmol/Lに調製したN-スクシンイミジル3-（2-ピリジルチオ）プロピオネート（SPDP）100μLを加えた。4℃にて5時間反応させた後、リン酸緩衝液で透析してピリジチオプロピオネート（PDP）導入アルカリホスファターゼを調製した。前記抗IgE抗体Fab'と前記PDP導入アルカリホスファターゼとを1mLずつ等量混合してから、1mol/Lヒドロキシルアミン40μLを添加した。4℃で3日間反応させた後、ゲル濾過カラム（TSK gel G3000SW；東ソー社製）を用いてゲルろ過し、未反応の抗IgE抗体Fab'及びPDP導入アルカリホスファターゼを除去し、アルカリホスファターゼ（AP）標識化抗IgE抗体Fab'水溶液を作製した。

#### 【0044】（3）AP標識化抗体パッドの作製

前記実施例1（2）で調製したAP標識化抗IgE抗体Fab'水溶液を、抗体1μg量となるように、5.0%ショ糖を含む5mmol/Lリン酸緩衝液（pH7.2）で希釈した後、その希釈液10μLを5mm×5mmに切断した吸収パッド（PREM1420；ボール社製）に塗布し、シリカゲルデシケーター内で室温下、一夜減圧（≤100mmHg）乾燥して、AP標識化抗体パッドを作製した。

#### 【0045】（4）試料添加パッドの作製

グラスファイバーパッドを5mm×18mmに切断し、0.5%ショ糖、0.2%Tween20、及び0.1%ポリビニールアルコール（重合度＝約500）を含む

水溶液に浸した後、過剰の水溶液を除去し、風乾して、試料添加パッドを作製した。

#### 【0046】（5）吸収パッドの作製

セルロースパッド（AP25；Millipore社製）を、5mm×20mmのサイズに切断し、吸収パッドとした。

#### 【0047】（6）イムノクロマトグラフ用ストリップの作製

5mm×60mmのサイズに切断したプラスチック粘着シート（BioDot製）に、展開方向に関して上流側から下流側に向かって、前記実施例1（4）で作製した試料添加パッド、前記実施例1（3）で作製したAP標識化抗体パッド、前記実施例1（1）で作製したアレルゲン固定化膜A、及び前記実施例1（5）で作製した吸収パッドの順に、各々その両端を隣接する部材と1mm程度重ね合わせて貼付することにより、イムノクロマトグラフ用ストリップ（1）を作製した。前記アレルゲン固定化膜Aの代わりに、前記実施例1（1）で作製したアレルゲン固定化膜B、アレルゲン固定化膜C、又はアレルゲン固定化膜Dを用いること以外は、前記操作を繰り返すことにより、イムノクロマトグラフ用ストリップ（2）、イムノクロマトグラフ用ストリップ（3）、及びイムノクロマトグラフ用ストリップ（4）を作製した。

#### 【0048】

【比較例1】《金コロイド（粒径＝20nm）標識化抗IgE抗体を用いるイムノクロマトグラフ用ストリップの作製》

#### （1）金コロイド（粒径＝20nm）標識化抗IgE抗体の調製

抗ヒトIgEマウスモノクローナル抗体1mgを、0.1mg/mLとなるようにリン酸緩衝液（2mmol/L, pH7.0）で希釈した後、透析した。続いて、金コロイド懸濁液（GOLD COLLOID 20；British BioCell International製）100mLを攪拌しながら、前記抗ヒトIgEマウスモノクローナル抗体水溶液10mLをゆっくり滴下し、室温下で10分間攪拌した。更に、攪拌しながら10%ウシ血清アルブミン（A-7888；Sigma製；以下、BSAと称する）水溶液10mLをゆっくり滴下した後、室温下で更に10分間攪拌した。この水溶液に5%ショ糖と0.2%Tween20を含む水溶液15mLを加え、混和した後、10℃にて16,000×gで1時間遠心分離し、上清を除去した。

【0049】沈殿した金コロイド標識化抗体を、0.5%ショ糖及び0.02%Tween20を含むボラックス緩衝液（pH8.0）100mLに再懸濁し、10℃にて16,000×gで1時間遠心分離し、上清を除去した。更に、沈殿した金コロイド標識化抗体を、0.5%ショ糖及び0.02%Tween20を含むボラックス

ス緩衝液 (pH8.0) 100 mL に再懸濁し、10℃にて16,000×gで1時間遠心分離し、上清を除去した。最後に、沈殿した金コロイド標識化抗体を、0.5%ショ糖及び0.02%Tween 20を含むボラックス緩衝液 (pH8.0) に再懸濁した後、粒子密度が約 $10^{13}$ /mL (波長520 nmにおける吸光度=約1.4) になるように濃度調整し、金コロイド標識化抗IgE抗体懸濁液とした。

【0050】(2) 金コロイド標識化抗体パッドの作製 AP標識化抗IgE抗体水溶液の代わりに、前記比較例1(1)で調製した金コロイド標識化抗IgE抗体懸濁液を用いること以外は、前記実施例1(3)の操作を繰り返すことにより、金コロイド標識化抗体パッドを作製した。

【0051】(3) イムノクロマトグラフ用ストリップの作製 AP標識化抗体パッドの代わりに、前記比較例1(2)で調製した金コロイド標識化抗体パッドを用いること以外は、前記実施例1(5)の操作を繰り返すことにより、4種類のイムノクロマトグラフ用ストリップ(5)～(8)を作製した。なお、アレルゲン固定化膜Aを有するイムノクロマトグラフ用ストリップを、イムノクロマトグラフ用ストリップ(5)と称し、以下、同様に、アレルゲン固定化膜B、C、又はDを有する各イムノクロマトグラフ用ストリップを、それぞれ、イムノクロマトグラフ用ストリップ(6)、(7)、及び(8)と称する。

#### 【0052】

【評価】前記実施例1で調製した4種類のイムノクロマトグラフ用ストリップ(1)～(4)、及び前記比較例1で調製した4種類のイムノクロマトグラフ用ストリップ(5)～(8)を、それぞれ、試料添加パッドを下にして、検体50μLを予め分注しておいたマイクロプレートウェルに差し込んで立て掛け、毛細管現象により検体をクロマト展開

させた。イムノクロマトグラフ用ストリップ(1)～(4)については、前記クロマト展開の開始から10分経過後に、5-ブロモ-4-クロロ-3-インドリル酸 (BCIP; ベーリンガー・マンハイム社製) 200μLを更にクロマト展開させた。

【0053】なお、前記検体としては、検体1 (ダニ特異的IgE=0 IU/mL、卵白特異的IgE=0 IU/mL)、検体2 (ダニ特異的IgE=3 IU/mL、卵白特異的IgE=3 IU/mL)、検体3 (ダニ特異的IgE=10 IU/mL、卵白特異的IgE=10 IU/mL)、及び検体4 (ダニ特異的IgE=30 IU/mL、卵白特異的IgE=30 IU/mL)を使用した。各検体中のダニ特異的IgE量及び卵白特異的IgE量は、従来の定量測定法 (アラスタット特異的IgE抗体測定キット; ヤトロン社販売、米国DPC社製) にて測定した値であり、国際標準単位であるIU/mLで表記した。

【0054】クロマト展開終了後、アレルゲン固相化領域 (1 mm幅バンド) における着色程度を目視判定した。各イムノクロマトグラフ用ストリップ(1)～(8)の構成を図1に示し、判定結果を図2に示す。AP標識化抗IgE抗体Fab'を用いるイムノクロマトグラフ用ストリップ(1)～(4)については、イムノクロマトグラフ用ストリップ(3)を用いて検体3を測定した場合の青色着色程度を「+」とし、それよりも着色程度が強い場合を「++」で示し、弱い場合を「±」で示す。また、着色が確認されない場合を「-」で示す。一方、金コロイド標識化抗IgE抗体を用いるイムノクロマトグラフ用ストリップ(5)～(8)については、イムノクロマトグラフ用ストリップ(7)を用いて検体3を測定した場合の赤色着色程度を「+」とし、それよりも着色程度が強い場合を「++」で示し、弱い場合を「±」で示す。また、着色が確認されない場合を「-」で示す。

#### 【0055】

《表1》

イムノクロマトグラフ用ストリップ	1	2	3	4	5	6	7	8
アレルゲン固定化膜	A	B	C	D	A	B	C	D
上流側	ダニ	卵白	ダニ	卵白	ダニ	卵白	ダニ	卵白
下流側	卵白	ダニ	-	-	卵白	ダニ	-	-
標識化抗体パッド	AP標識化抗体				金コロイド標識化抗体			

#### 【0056】

《表2》

イムノクロマトグラフ用ストリップ	1	2	3	4	5	6	7	8
各アレルゲン量 (IU/mL)								
検体	ダニ	0	-	-	-	-	-	-
1	卵白	0	-	-	-	-	-	-

検体	ダニ	3	±	±	±	±	-	±
2	卵白	3	±	±	±	-	±	±
検体	ダニ	10	+	+	+	+	±	+
3	卵白	10	+	+	+	±	+	+
検体	ダニ	30	++	++	++	++	+	++
4	卵白	30	++	++	++	+	++	++

【0057】金コロイド(粒径=20nm)標識化抗IgE抗体を使用すると、イムノクロマト膜の下流位置に固相されたアレルゲンバンドは、上流アレルゲン又は単独アレルゲン固相に比べ、着色度合いが弱かった。一方、AP標識化抗IgE抗体Fab'を使用した場合には、膜の上流及び下流の区別なく、しかも、アレルゲン固相が単独又は複数に関係なく同等に着色された。従って、複数項目のアレルゲン特異的IgEをイムノクロマト法にて同時に測定するには、本実施例の場合、単独標識に適したアルカリフォスファターゼ標識が適していることが判明した。

#### 【0058】

【発明の効果】本発明のイムノクロマトグラフ法によれば、定量的に、しかも、被検試料を分割することなく、簡便且つ短時間に、複数の分析対象物質の分析が可能である。例えば、従来公知の日立化成MASTでは、アレルゲンを固定化した複数本の糸を担持した反応容器中で、抗原抗体反応を実施するため、前記反応容器を振盪したとしても、糸に担持させたアレルゲンと、被検試料中の分析対象であるアレルゲン特異的IgE抗体との接触機会が低く、長時間の反応時間(例えば、一昼夜)を必要としていた。また、被検試料を希釈して反応容器中へ添加することも、前記接触機会を更に低くする要因となっていた。それに対して、本発明のイムノクロマトグラフ法では、例えば、吸収パッドを設けることにより、被検試料を吸収パッドに向かって短時間に強制的に移動

させることができ、この結果、被検試料中の分析対象物質(例えば、アレルゲン特異的IgE)の大部分を、固定化した特定免疫反応性物質(例えば、アレルゲン)と、短時間且つ強制的に接触させることができるため、感度の向上と併せて、短時間に抗原抗体反応を終了させることができる。

【0059】本発明のイムノクロマトグラフ法によれば、医師の診察時に患者血液等サンプルを採取し、その場でアレルギー疾患原因物質を特定することが可能となる。従来アレルゲン特異的IgE抗体検査結果を入手する為に、後日改めて病院に行かなければならなかった患者の負担を軽減し、かつアレルゲン特異的IgE抗体検査結果に基づく医師によるアレルゲン除去治療及び指導を即刻行うことができるようになることから、医療効率向上に繋がる。これは、近年のアレルギー疾患患者数増加に対応し、医療費抑制にも寄与するものである。

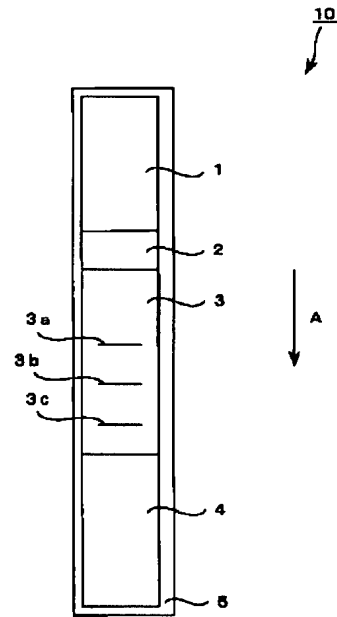
#### 【図面の簡単な説明】

【図1】本発明のイムノクロマトグラフ法に使用することのできるイムノクロマトグラフ用ストリップの一態様を模式的に示す平面図である。

#### 【符号の説明】

1・・・試料添加パッド；2・・・標識化共通免疫反応性物質保持パッド；  
3・・・固定化メンブレン；4・・・吸収パッド；5・・・粘着シート；  
10・・・イムノクロマトグラフ用ストリップ。

【図 1】



---

フロントページの続き

(72)発明者 松浦 司郎  
東京都千代田区東神田1丁目11番4号 株  
式会社ヤトロン内